



**Espacenet**

# **Bibliographic data: JP 58185162 (A)**

## **WOUND PROTECTING MATERIAL**

**Publication date:** 1983-10-28  
**Inventor(s):** STEMBERGER AXEL ±  
**Applicant(s):** RUHLAND NACHF GMBH DR ±  
  
**Classification:** - **international:** A61F13/00; A61K38/17; A61L15/16; A61L15/22; A61L15/32; A61L15/44; A61L27/00; (IPC1-7): A61F1/00; A61F13/00; A61L15/01  
 - **European:** A61L15/32A; A61L15/22M  
  
**Application number:** JP19830058557 19830402  
**Priority number (s):** DE19823212412 19820402  
  
**Also published as:**

- [JP 2060339 \(B\)](#)
- [JP 1636531 \(C\)](#)
- [EP 0090997 \(A2\)](#)
- [EP 0090997 \(A3\)](#)
- [EP 0090997 \(B1\)](#)
- [more](#)

**Abstract not available for JP 58185162 (A)**

**Abstract of corresponding document: EP 0090997 (A2)**

1. Dry, Fleecy or spongy tissue-adherent flat collagenous dressing made of collagen and fibrinogen, characterized in that the dressing is made in layers by freeze-drying a collagen/fibrinogen combination and contains a collagen layer which is 0.3 to 2 cm thick, and which has on at least one surface a fibrinogen layer which is 0.2 to 2 mm thick with a fibrinogen content of from 0.5 to 10 mg/cm<sup>2</sup> and is anchored in the collagen.

⑯ 公開特許公報 (A)

昭58—185162

⑮ Int. Cl.<sup>3</sup>  
A 61 L 15/01  
A 61 F 1/00  
13/00

識別記号

庁内整理番号  
7033—4C  
6580—4C  
7033—4C

⑰ 公開 昭和58年(1983)10月28日

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑱ 創傷保護材

⑲ 特 願 昭58—58557

⑳ 出 願 昭58(1983)4月2日

優先権主張 ㉑ 1982年4月2日㉒ 西ドイツ  
(DE)㉓ P3212412.0

㉔ 発 明 者 アクセル・ステンベルガー  
ドイツ連邦共和国ディー—8014

㉕ 出 願 人 ドクター・ルーランド・ナハフ  
・ゲムムペーハー  
ドイツ連邦共和国ディー—8425  
ノイシュタット・シュタットブ  
ラッツ7  
㉖ 代 理 人 弁理士 専優美 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

創 傷 保 護 材

2. 特許請求の範囲

- (1) コラーゲン／フィブリノーゲンの組合せ物を凍結乾燥して製造され、少なくとも一方の面にフィブリノーゲンを0.5ないし10 mg/cm<sup>2</sup>の量で含む厚さ0.2ないし2 mmのフィブリノーゲン層をコラーゲン中に持着されて有する厚さ0.3ないし2 mmのコラーゲン層を有することを特徴とする乾燥した平らな毛状もしくはスポンジ状の組織付着性コラーゲン創傷保護材。
- (2) フィブリノーゲンがSH基を含有する特許請求の範囲第1項記載の創傷保護材。
- (3) フィブリノーゲンが後からのSH化もしくは該フィブリノーゲン分子中のジスルフィド結合の環元によつて導入されたSH基を有する特許請求の範囲第2項記載の創傷保護材。

(1)

- (4) さらに薬剤を含有する特許請求の範囲第1項ないし第3項のいずれか一項に記載の創傷保護材。
- (5) 少なくとも一つの層に抗組織酵素溶解剤および／または多価プロテインアーゼインヒビターおよび／またはトロンピンを含有するが、但し、一つの層にトロンピンとフィブリノーゲンは含まれない特許請求の範囲第4項記載の創傷保護材。
- (6) 薬剤が抗生物質である特許請求の範囲第4項記載の創傷保護材。
- (7) 抗生物質がゲンタマイシン (gentamycin) である特許請求の範囲第6項記載の創傷保護材。
- (8) コラーゲンが硫酸と4—ヒドロキシプロリンの重量比で4より小さく、好ましくは3より小さい純度を有する特許請求の範囲第1項記載の創傷保護材。

3. 発明の詳細な説明

コラーゲンは長年外科手術に使用されている。コラーゲンはスポンジまたは繊維の形状で止血

(2)

のために使用でき、また適当に塑性して創傷の治療を促進するのに適する。血餅形成能に欠陥を有する患者の場合または、出血が広い面積に及ぶ場合は、従来のコラーゲン性創傷保護材(dressing)では不十分であつた。そのため、レゾルシンノールホルムアルデヒド、コラーゲンまたはゼラチンをベースとする接着剤を使用して、コラーゲン性物質を組織に付着させる試みがなされている。そのような接着剤の使用は事実止血作用を奏するが、しかしながら、接着剤が毒性を有するため実用には適さない。このことはアクリル系接着剤およびそれとコラーゲン性保護材との組合せにおいてもあてはまる。

コラーゲンが組織の結合成分と共有結合架橋を形成しうことは良く知られている。この場合、コラーゲンの架橋はシッフ塩基により並びにアルドール結合により起る。さらに、基礎膜においては、組織の強度は基礎膜コラーゲンの8-8架橋によつてより強まることも良く知られている。さらに、アルブミン等の蛋白質が8

(3)

剤を含むトロンビン溶液、および超低温凍結保存高濃度フィブリノーゲン溶液である。しかしながら、出血の事態はしばしば予期し得ぬとき突然発生するから、必要時にこれら三成分が入手できぬことがしばしばある：少なくとも凍結保存フィブリノーゲン溶液を使用前に溶解するのに時間は要する。適用前の混合もまた比較的複雑である。

「ビーナー メディツィーニツシエ ボフヘン シュリフト (Wiener medizinische Wochenschrift)」  
 Nr. 7, 第86-89頁 (1976年) には、心臓手術における出血抑制のため、フィブリノーゲンおよびコラーゲンを局所適用することが報告されている。ここに記載されている付着の技術においては、ヒトフィブリノーゲンのクリオプレシット、トロンビン、第XIII因子濃縮物ならびにコラーゲン毛状物が使用されている。フィブリノーゲンを所望の部位に適用し、トロンビン溶液および第XIII因子を添加してその場に血餅を形成させる。出血が重篤であるときは、十分に

(5)

8架橋の強やかな還元およびひき裂く酸化によつて分子間8-8結合で架橋しうすることも知られている。

傷害時には、血餅が傷口の初期閉止部を形成する。これは凝集した登球およびフィブリンネットワークにより起る。フィブリン分子各々はトランスグルタミナーゼ(第XIII因子)によつて架橋することが知られている。その際、隣り合う鎖のグルタミン酸とリジンの間に新たなペプチド結合が形成される。フィブリン結合技術の使用、すなわちフィブリノーゲンとトロンビンの使用により、血漿血餅形成の最終段階が模倣できる。

しかしながら、フィブリンの付着のみでは広面積の出血を止めることはできない。広面積の出血を止めることは、フィブリン付着と組織に吸収せられるコラーゲン性保護材との組合せによつてのみ可能である。しかしながら、そのためには三つの成分を用意しなければならない：すなわち、コラーゲン性保護材、抗凝薬溶解

(4)

組織吸取性の担体物質としてコラーゲン毛状物(フリース)が使用され、その場合は該コラーゲンフリースに各成分の溶液を塗布してフィブリノーゲン塗布側を出血部に押しあてて、これはフィブリンを完全に重合せしめて組織へのフィブリン繊維の十分な付着を目指すものである。この付着技術を使用する場合、フィブリノーゲンのコラーゲンへの塗布はコラーゲンスポンジの崩壊の危険性をできる限り避けるために適用直前に行なわなければならない。

本発明の目的は、予め用意された状態で手術中に直ちに使用でき、前記のように吸取性コラーゲンと組合せたフィブリン付着法の欠点が生じない外科手術用コラーゲン性創傷保護材を提供することにある。この目的と関連して、本発明は、局所止血開始に必要な成分を含有する貯蔵可能なコラーゲン凝製品を提供することも目的とする。

この目的は、本発明によるコラーゲン/フィブリノーゲンの組合せ物を凍結乾燥して製造さ

(6)

れ、少なくとも一方の面にフィブリノーゲンを0.5ないし10mg/cm<sup>2</sup>の量で含む厚さ0.2ないし2mmのフィブリノーゲン層をコラーゲン中に持たせられて有する厚さ0.3ないし2mmのコラーゲン層を有することを特徴とする乾燥した平らな毛状もしくはスポンジ状の組織付着性コラーゲン創傷保護材により達成された。

本発明の創傷保護材は層状構造を有する。主層はコラーゲンよりなり、厚さ約0.3ないし2mm、好ましくは0.7ないし1mmである。このコラーゲン層の一方もしくは両方の面にフィブリノーゲン層が存在する。このフィブリノーゲン層は、厚さ約0.2ないし2mmであり、コラーゲン層の表面に形成され、両層の境界面にはフィブリノーゲン分子とコラーゲン分子との結合が存在する。

フィブリノーゲン層は、フィブリノーゲンを1cm<sup>2</sup>当たり0.5ないし10mg、好ましくは4mg含有することが重要である。

しばしば、層状コラーゲンの一方もしくは両

(7)

は多価プロテインアゼインヒビター（非特異的プロテインアゼインヒビター）を含有してもよく、また、フィブリノーゲンと同一層に存在したりフィブリノーゲンと直接接触しないことを条件にトロンピンが存在してもよい。

本発明のコラーゲン創傷保護材は次のように製造できる。

まず、コラーゲンは公知の方法で製造できる。好ましくは、コラーゲンの純度は型素(N)とヒドロキシプロリン(Hyp)の重量比で表現したとき4より小さく、好ましくは3より小さい程度純度であることが必要である。

$$N/Hyp = \frac{N(\text{mg})}{4-Hyp(\text{mg})}$$

「J. Mol. Biol.」第44巻、第161頁(1969年)

0.05モル酢酸中の1.5モルコラーゲン溶液を公知の方法で凍結乾燥して、厚さ0.5mmのコラーゲンスポンジを形成する。所望により、凍結乾燥中に、予め抗凝維素溶解剤〔例えばトランキサ

(9)

ミン酸（別名トランス-4-（アミノメチル）シクロヘキサカルボン酸）および/または多価プロテインアゼインヒビター（例えばアブチニン）を添加した溶液を乾燥後のコラーゲンスポンジ中の量が1cm<sup>2</sup>当たり0.2ないし10mgまたは4ないし1000KIEとなるように添加してもよい。

コラーゲンスポンジの製造とは別に、フィブリノーゲン溶液は次のように製造できる。

フィブリノーゲン（好ましくは静注用）をフィブリノーゲン30mg/mlとなる濃度で特設NaCl溶液に溶解する。この溶液を次いで使用のスプレー手段によつて上記で製造したコラーゲンスポンジ上に無偏的に厚さ0.2ないし2mmにスプレーし（1cm<sup>2</sup>当たり0.5ないし10mgに相当）、次いで直ちに凍結乾燥するが、このようにして形成した層の厚さは原則として2mmを超えてはならず、さもないとフィブリノーゲン層の持着性が乏しくなる。この方法により、コラーゲンマトリックス中への十分な持着が可能である。所望

の表面に形成されたフィブリノーゲンが遊離SH基を有することが有利である。このSH基はフィブリノーゲンの凝固時にS-S結合を形成して、より丈夫なフィブリンを形成し、止血効果を高める。これらの遊離SH基は、S-S結合を還元的に開裂するか、フィブリノーゲンをSH基を含有するフィブリノーゲンと混合することによつて予めフィブリノーゲン中に導入しうる。さらに、フィブリノーゲン中に含まれるS-S結合を未変化に保持したまま、フィブリノーゲンに追加的SH基を導入することもできる。例えば「Proceedings of the National Academy of the USA」、第44巻、第848-853頁(1958年、ワシントン)に記載されたベネシュ等(Benesch & Benesch)の方法または「Biochem. Journ.」、第101巻、第717-720頁(1966年)に記載されたステファン等(Stephen and colleagues)の方法を使用することができる。

フィブリノーゲンの説明から離れるが、層の少なくとも一つが抗凝維素溶解剤および/または

(8)

により、フィブリノーゲン層に抗酸維素溶解剤および／または多価プロテインゼインヒビターを含ませることもできる。

コラーゲンをグンタマイシンのような抗生物質の担体として使用できることも公知である。本発明の創傷保護材はグンタマイシン、テトラサイクリンもしくは他の抗生物質または化学療法剤を含有してもよい。

#### コラーゲンの調製

色素層および筋肉残渣を全て取り除いた新鮮な牛の腿をホモジナイズし、乾燥重量100g相当分を0.05Mクエン酸緩衝液(pH3.7)3ℓ中で24時間抽出し、次いで1ℓ酢酸に対して12時間透析した。

1ℓ酢酸3ℓに懸濁した組織を、コラーゲン対ペプシンが50:1となる量のペプシンとともに一定攪拌条件下に10℃で48時間インキュベートした。

次いで、このパッチを1ℓ酢酸で5ℓに希釈し、遠心分離により不溶の固成分を除去した。

83

30mg含む溶液を得、これをひき続け試験に使用した。

8H基酸性フィブリノーゲンを製造するため次のように行なつた。

フィブリノーゲンを塩酸食塩溶液に20mg/gの濃度まで溶解した。このフィブリノーゲン溶液10mlを、N-アセチルホモシステインテオラクトン溶液(蒸留水中の60mg/mlのもの)1mlおよび炭酸緩衝液(pH10.6)10mlと反応させ、0℃で35分間インキュベートした。次いでリン酸緩衝液(pH7.0,  $i = 0.4$ )40mlを加えて反応を停止させた。次いで研過技術および研過膜(限界分子量5,000)を使用して、溶液の脱塩および同時に濃縮した。

#### コラーゲンおよびフィブリノーゲンを含む創傷保護材の製造

先ず1ℓコラーゲン溶液100mlを10×10cmの金型に注入し、通常の方法で凍結乾燥し、得られたスポンジ状コラーゲンを設置した。無菌条件下でこの凝固コラーゲンスポンジにフィブリノ

ゲンをコラーゲン溶液をアルカリ性にした水道水(pH8.0)に対して透析し、次いで強く遠心分離した。沈殿を再度1ℓ酢酸5ℓに溶解して透析した。この操作を固素対ヒドロキシプロリンの比が3より小さくなるまで繰返した。最後の透析の後、0.05ℓ酢酸で1.5ℓコラーゲン溶液を製造し、これをひき続け試験に用いた。

抗酸維素溶解剤および／またはプロテインゼインヒビターを含有する10×10×0.5cmのコラーゲンスポンジを製造するには、コラーゲン溶液50mlをトロンキサミン酸0.2gおよび／またはアプロチニン40,000KIEとともに混合して凍結乾燥する。

10×10×0.5cmのコラーゲン-グンタマイシンスポンジを製造するには、コラーゲン溶液50mlをpH1をいし2に調整し、炭酸グンタマイシン100mgと混合して次いで凍結乾燥する。

#### フィブリノーゲン溶液の調製

市販の凝固フィブリノーゲンを凝固剤NaCl溶液に溶解して、フィブリノーゲンを1ml中に

84

コラーゲン溶液をスプレーし、コラーゲン表面1cm当たりフィブリノーゲンを5mgスプレーした。再度凍結乾燥し無菌条件下で包装した。コラーゲン層は厚さ10mmであり、その上のフィブリノーゲン層は厚さが約0.3mmであつた。

次に、コラーゲン-フィブリノーゲンスポンジおよびグンタマイシン-コラーゲン-フィブリノーゲンスポンジによる生体外(in vitro)および生体内(in vivo)試験の結果を示す。

#### 生体外試験

前記で調製した保護材を、記載手段に接続した負荷受容部よりなる破壊強度試験機で試験した。測定は100ないし1000ポンドで行なつた。コラーゲン-フィブリノーゲンスポンジのコラーゲン側を工業用接着剤で厚さ1cmのプラスチック円盤上に接着した。次いでフィブリノーゲンが被覆された面をトロンビン溶液(1000NIH単位/ml)0.1mlで潤らせ、20分後に破壊強度をこの試験機で測定した。その値は7回の測定の平均で730ポンド/cmであつた。

85

## 生体内試験

ラット400匹の試験において、(グンタマイシン)コラーゲン-フィブリノーゲン保護材(以下、フィブロコールという)を、プラズマ分画による通常の組織癒着法(フィブリン接着システム=FK)により結腸の吻合部保護作用を調べた。

- a) 対照群〔ランベール(Lembert)による7回の逆単一ボタン縫合による腸造瘻術〕
- b) さらにFKの適用
- c) コラーゲンフリース(フィブリノーゲン-グンタマイシンなし)によるFK
- d) 縫合部にフィブロコール付着
- e) グンタマイシンを有する(1mg/ml)フィブロコール

治療の初期段階において、種々の癒着システムで処置した動物は、術後3日目まで縫合部分に明らかに傷の程度が強く認められた。フィブロコールを使用したときは、癒着中の創傷部分の面積は従用のフィブリン付着法に比べて減少

04

していた。グンタマイシン-コラーゲン-フィブリノーゲン保護材の使用により、この抗生物質のコントロールされた放出が認められ、血中の抗生物質濃度は毒性限度よりはるかに低く保持された。

別の試験において、フィンガー・フラクチャー法(finger fracture technique)により豚5匹に対する部分肝切除を行ない、手の届く動脈および静脈を結紮した後、出血中の実質の欠損部にコラーゲン-フィブリノーゲン保護材をあてた。ひきつづく術後期間において、後からの出血は認められず、保護材の取出は12週間後に完了した。

(グンタマイシン)コラーゲン-フィブリノーゲン保護材により、良好な止血効果を有し、簡単、迅速および安全な処置も可能な治療材が得られる。さらに、抗生物質が同時に作用するので創傷の治療の改善が認められた。

04